

# 「Rhodopseudomonas spheroidesにおける細菌クロロフィルの誘導的形成と アミノレブリン酸合成酵素活性との関連について」

|     |   |
|-----|---|
| 著者  | 後藤 清人   |
| 号   | 301   |
| 発行年 | 1965  |
| URL | <a href="http://hdl.handle.net/10097/18063">http://hdl.handle.net/10097/18063</a> |

氏 名 小 後 藤 清 人

授 与 学 位 医 学 博 士

学位授与年月日 昭和 4 0 年 3 月 2 5 日

学位授与の根拠法規 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項

研究科・専攻の名称 東北大学大学院医学研究科  
内科学系

学 位 論 文 題 目 「Rhodopseudomonas spheroides における  
細菌クロロフィルの誘導的形成とδアミノレブリン酸合成酵素活性との関連について」

指 導 教 官 東北大学教授 中 村 隆

論文審査委員 東北大学教授 菊 地 吾 郎

東北大学教授 吉 沢 善 作

## 論 文 内 容 要 旨

クロロフィルは、ヘモグロビンと同じく、ポルフィリンの誘導体であり、両者の色素部分の合成の経路は、少くともプロトポルフィリン合成の段階までは、完全に共通である。ポルフィリン合成の第1の中間体は、 $\delta$ アミノレブリン酸(以下 $\delta$ -ALAと略称)であり、その合成を触媒する $\delta$ -ALA合成酵素は、動物では有核赤血球、網状赤血球、肝ミトコンドリアなどポルフィリン合成能の高い細胞成分に局在する。また急性ポルフィリン症などの代謝異常疾患では、 $\delta$ -ALA合成酵素活性の増大することが、実験的に示唆されている(Urata & Granick, 1963; Miyakoshi & Kikuchi, 1963)。近年、微生物におけるポルフィリン合成過程も、動物の場合と異なる事実が明らかにされ、特に光合成菌 *Rhodospseudomonas spheroides* (以下 *R. spheroides* と略称) は、細菌クロロフィル合成の必要上、著しく高いポルフィリン合成能を持つことが示された。*R. spheroides* は通常嫌氣的に光条件下で培養されるが、好気状態では暗条件下でもよく生育する。ただし好気培養では本菌はクロロフィルを合成しない。ところがこの好気培養菌を、同じく暗ではあつても低酸素状態にうつすと、ほとんど菌の発育をともなわない条件下でも急速にポルフィリン合成酵素活性が高まり、クロロフィルを合成するようになる(Lascelles, 1959)。このように *R. spheroides* では、環境条件によりクロロフィル合成能が著しく変動することが知られたため、ポルフィリン合成の、特にその制御機構の解明に好適な材料として多くの研究者の関心を集めている。本論文は、好気暗培養菌を低酸素条件下にうつした時に誘導されるクロロフィル形成と、ポルフィリン合成の基本酵素である $\delta$ -ALA合成酵素活性増大との間にどのような関連があるかについて検索した成績の報告である。

*R. spheroides* の好気暗培養菌を、Lascellesの培地Iに乾重量3 mg/mlの濃度に懸濁、その40 mlを100 mlの三角フラスコに入れ、30°C、暗条件下でゆるやかに振盪をつづけると、クロロフィルおよび $\delta$ -ALA合成酵素の形成が誘導され、クロロフィル含量は、6~8時間で最高値に達する。一方 $\delta$ -ALA合成酵素活性増大の経過はそれよりも速く、振盪開始後約90~120分でその最大値に達する。これら両者の誘導的形成に対する培地組成の影響を検討してみると、クロロフィル合成に対して、特に鉄イオンが著しい効果を示すことが注目された。すなわち、鉄イオンを除くと、クロロフィルの形成は対照の約10%以下に低下した。しかし $\delta$ -ALA合成酵素の誘導は鉄イオン除去によつてほとんど影響をうけず、このため培地中

には多量のポルフィリンが蓄積した。このことは、 $\delta$ -ALA合成酵素の誘導とクロロフィル形成の誘導とが、必ずしも同じ機構によつて制御されるものではないことを示唆している。次に培地への酢酸添加もまたクロロフィル形成を著明に抑制したが、 $\delta$ -ALA合成酵素の誘導は逆に若干促進された。同様の効果はクエン酸添加によつても認められた。これらの事実も又、クロロフィル形成の誘導には、 $\delta$ -ALA合成酵素誘導と異なる機構が関与していることを示唆する。

次いで、各種の核酸および蛋白合成阻害剤がクロロフィルおよび $\delta$ -ALA合成酵素の誘導的形成に与える影響を検討した。ChloramphenicolおよびAcriflavineは、クロロフィル、 $\delta$ -ALA合成酵素の両者の形成をともに強く阻害した。Actinomycinの場合には本菌では膜透過性に制限があるため実際の阻害効果は小さく、クロロフィル形成、合成酵素の誘導は、それぞれ平行して約50%程度阻害されるにとどまつた。これに対して、DNA合成阻害剤であるMitomycin及びPhleomycinを用いた場合には、クロロフィル形成は著明に阻害されたが、 $\delta$ -ALA合成酵素の活性増大はほとんど阻害されず、時に対照をこえる活性を示した。以上の各種阻害剤の影響より推察すると、 $\delta$ -ALA合成酵素の誘導的形成は単純にm-RNAの合成増加に依存するようであるが、クロロフィル形成の場合には、その上さらにDNAの新生ないしは代謝回転が要求されるものと判断され、両者の誘導機作の相違はDNA合成段階を含むか含まないかと云う点にかかっていることが強く示唆された。

クロロフィルと $\delta$ -ALA合成酵素の誘導的形成は、 $\delta$ -ALAを少量培地に添加することによつても強く抑制された。また阻害の程度はクロロフィル形成について特に顕著であつた。チトクロームCを培地に加えた場合にもこれと類似の阻害が認められた。これに反してヘマチン添加ではむしろ、 $\delta$ -ALA合成酵素の誘導阻害の方が優勢であつた。この種の阻害については、(1)クロロフィル合成の中間体によつて酵素合成やクロロフィル合成がfeed back阻害をうける可能性と(2)ヘミン誘導体の添加によつて細胞呼吸が活発となり、内部環境が好気条件に近づくために合成が抑制される可能性とが考えられる。

以上の諸実験成績を総合すると、 $\delta$ -ALA合成酵素はポルフィリン、クロロフィル合成の第1段階を触媒する重要な酵素ではあるが、ポルフィリン、クロロフィル生合成の制御と云う観点からみると、この酵素活性だけが決定的因子ではなく、そのほかにも、クロロフィル合成を支配する種々の複雑な機構の存在することが推定される。

## 審 査 結 果 の 要 旨

光合成細菌 *Rhodospseudomonas Spheroides* はポルフィリン合成能が強いので、その生合成の研究には好適な材料であるが、この菌は好気暗培養ではポルフィリン合成酵素活性が著しく低く、また細菌クロロフィルを合成しない。しかしこの好気暗培養菌でも、これを低酸素分圧条件にうつすと、光照射がなくても急速にポルフィリン合成能が高まり、同時に細菌クロロフィル形成が誘導される。著者は本論文において、このような環境転換によつて誘導されるポルフィリン合成酵素の合成、および細菌クロロフィル形成の現象を解析し、その調節機構を解明しようと企てている。著者が得た主な実験成績は次のようである。

培地から鉄を除くとクロロフィル形成は90%以上阻害されるが、 $\delta$ -ALA合成酵素の合成はほとんど阻害されない。またクロロフィル形成は酢酸、クエン酸、チトクロームCのいずれの添加によつてもかなり著明に抑制されたが、これらの物質の添加は $\delta$ -ALA合成酵素の合成に対しては見るべき影響を与えなかつた。ただしチトクロームC添加は $\delta$ -ALA dehydraseの合成をも若干抑制した。これに対してヘマチン添加は、 $\delta$ -ALA合成酵素および $\delta$ -ALA dehydraseの合成をともに強く阻害したにもかかわらず、クロロフィル形成に対する阻害は甚だ軽微であつた。また $\delta$ -ALA合成酵素の合成は誘導の途中で培地に $\delta$ -ALAが添加されると直ちに阻害されたがクロロフィル形成の阻害は軽度であつた。次に抗生物質のうちクロラムフェニコール、アクリフラビン、アクチノマイシン等はクロロフィル形成と $\delta$ -ALA合成酵素の合成をともに同程度に阻害したが、マイトマイシンはクロロフィル形成のみを強力に阻害し、 $\delta$ -ALA合成酵素の合成阻害は僅微であつた。

以上のほか多数の実験成績にもとづき、著者は、ポルフィリン生合成系の諸酵素の誘導的合成と、クロロフィルの誘導的形成とは、部分的には共通の調節機構の支配を受けるが、そのほか両系にそれぞれ独立にはたらく調節機構が存在すること、したがつて $\delta$ -ALA合成酵素活性の高低が必ずしもクロロフィル形成の大小を支配するものではないことを明らかにした。著者はさらにそれぞれの調節機構について適切な考察を加えており、ポルフィリン生合成の生理的調節の理解を深める上で貢献するところが大きい。

したがつて本論文は学位を授与するに値するものと認める。